

[栄養繁殖系作物のウイルスフリー苗作出と大量増殖法の開発]

ブバルディアの培養増殖における内生菌感染の影響  
～内生菌感染の確認と培養シュートの外部形態の評価～

鈴木克彰・宮下千枝子・菅原優司\*・竹内浩二\*<sup>2</sup>・篠原弘亮\*<sup>3</sup>  
(園芸技術科・\*生産環境科・\*<sup>2</sup>島しょセ大島・\*<sup>3</sup>東京農大)

---

【要 約】大島のブバルディア基幹2品種は、*Rhodanobacter* 属の内生菌に感染している。また、内生菌感染シュートと無菌シュートはサイズ・色ともに大きく異なることから、シュートの形態観察により内生菌感染の有無を判別できると考えられる。

---

【目 的】

大島のブバルディア基幹2品種のウイルスフリー苗生産において、増殖効率の低さが問題となっており、培養中の内生菌の発生が一因とされている。本試験では、まず内生菌の有無を確認するとともに、内生菌が培養シュートの外部形態に及ぼす影響を評価する。

【方 法】

1. 供試品種：「ヨホワイト（以下、ホワイト）」と「チェリーピンク（以下、ピンク）」のウイルスフリー苗を供試した。
2. 内生菌の確認：殺菌処理したウイルスフリー苗の茎頂から生長点（直径約 0.5mm）を摘出し、B1培地（BA1.0mg/L+NAA0.01mg/Lを添加したMS培地（pH5.8））に置床した。3ヵ月後、初代培養で6cm以上に成長したシュートを、茎頂または腋芽を1個ずつ含んだ約3cmの茎切片に分割してB1培地に置床し、継代培養を行った。継代1ヵ月後、シュート付近の培地を観察し、内生菌の有無を調査した。
3. 内生菌の同定：培養中に出現した内生菌を単離し、細菌の同定に利用される *16S rDNA* の塩基配列を決定して、DDBJのデータベースと照合した。
4. シュートの形態調査：継代培養1ヵ月後に、シュートの茎径およびシュート基部のカルスの重量・色を調査した。

【成果の概要】

1. 2品種ともに、初代培養では内生菌の出現は認められなかったが、継代培養ではシュート周辺の培地中に、内生菌による白濁が観察された（図1）。このシュートをさらに継代培養すると再び培地中に白濁が出現したため、これを内生菌感染シュートとし、白濁を採取して単離培養した。また、継代培養を繰り返しても白濁が発生しないシュートが得られたので、これを無菌シュートとした。
2. 2品種から単離培養した内生菌の *16S rDNA* の塩基配列が、*Rhodanobacter* 属の *16S rDNA* の塩基配列と99%一致したため、内生菌を *Rhodanobacter* 属と同定した。
3. 継代培養1ヵ月後のシュートの形態を比較すると、無菌シュートのほうが感染シュートより茎径、カルス重ともに有意に大きかった（図2・表1）。また、カルス色は無菌シュートが緑色、感染シュートが褐色と、大きく異なっていた。このことから、内生菌の感染の有無をシュートの形態的特徴から判別することが可能と考えられた。
4. まとめ：「ホワイト、ピンク」は *Rhodanobacter* 属の内生菌に感染していることを確認した。培養シュートの形態的特徴から内生菌感染の有無が判別可能と考えられた。

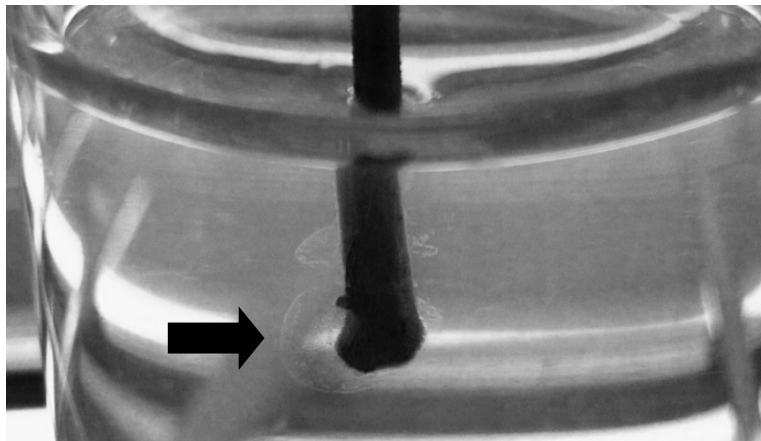


図1 ブバルディアの培養シュートから出現した内生菌による白濁

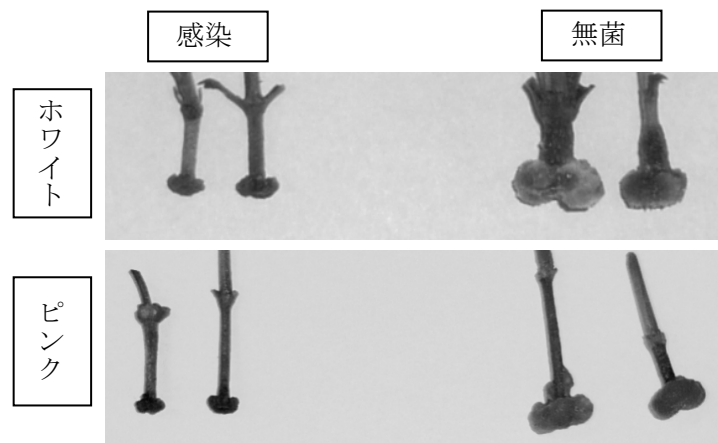


図2 感染シュートおよび無菌シュートの形態  
継代培養で1ヵ月後のシュート

表1 内生菌の有無がシュートの形態に及ぼす影響

品種・内生菌	供試数	茎径 (mm)	カルス	
			重量(mg)	色
ホワイト・感染	10	1.7	35	褐色
ホワイト・無菌	10	2.8 **	150 **	緑色
ピンク・感染	10	1.6	27	褐色
ピンク・無菌	10	2.2 **	100 **	緑色

\*\* :  $p < 0.01$  ( $t$ 検定)